



## Pengaruh Konsentrasi Substrat Kulit Nanas dan Kecepatan Pengadukan terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* untuk Produksi Asam Laktat

Effect of Pineapple Skin Substrate Concentration and Stirring on the Growth of *Lactobacillus plantarum* for Lactic Acid Production

Panca Nugrahini Febriningrum

Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Lampung  
Jl. Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No.1 Bandar Lampung 35145  
Telp.(0721)704949 fax.(0721)702767  
E-mail:panca\_nugrahini@yahoo.com

### Abstrak

Salah satu pemanfaatan alternatif limbah kulit nanas adalah untuk memproduksi asam laktat melalui proses fermentasi. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh pemahaman yang lebih baik mengenai pertumbuhan bakteri laktat (*Lactobacillus plantarum*) dengan variasi konsentrasi substrat: 100 g/L – 600 g/L dan laju pengadukan 50 rpm, 150 rpm dan 250 rpm. Proses anaerobik yang dilakukan tanpa adanya pengaturan pH, dengan pH awal 5 dan temperatur 28°C. Kulit nanas digunakan sebagai substrat setelah dihilangkan kadar airnya menggunakan amonium dehidrogen fosfat. Pertumbuhan sel dianalisis dengan menghitung total sel mikroorganisme menggunakan *hemocytometer*. Untuk menentukan produksi asam laktat, maka dianalisis konsentrasi glukosa menggunakan spektrofotometer. Dalam analisis ini digunakan metode Nelson-Somogy. Selain itu, konsentrasi etanol juga dianalisis dengan menghitung konsentrasi asam laktat tertitrisasi. Pertumbuhan optimal *Lactobacillus plantarum* adalah pada temperatur 28°C, kecepatan pengadukan 150 rpm, dan konsentrasi substrat 500 g/L dengan total sel untuk fase lag, eksponensial dan fase penurunan masing-masing adalah  $3,85 \times 10^8$ ;  $1,13 \times 10^9$ , dan  $4,00 \times 10^8$ . Pada kondisi yang sama diperoleh konsentrasi asam laktat rata-rata adalah 1,620% v/v dengan persentase konsumsi glukosa 51,76%.

Kata kunci: anaerob, asam laktat, fermentasi, kulit nanas, *Lactobacillus plantarum*

### Abstract

One of the alternative utilization of pineapple peel wastewas to convert it to lactate acid via fermentation. This research was aimed to obtain better understanding on the growth of lactate bacteria (*Lactobacillus plantarum*) by varying substrate concentration: 100 g/L - 600 g/L and stirring rate of 50 rpm, 150 rpm, and 250 rpm. The growth of anaerobic process was performed without pH controlling with initial pH of 5 and temperature of 28°C. Pineapple peel was used as the substrate after removing water content using ammonium dihydrogen phosphate. Cell growth was analyzed by calculating the total of microorganism cell using hemocytometer. In order to determine lactate acid production, glucose concentration was analyzed using spectrophotometer. Nelson-Somogy method was employed in this analysis. Ethanol concentration was also analyzed by calculating the titration of acid lactate concentration. The optimum growth of *Lactobacillus plantarum* was found at 28°C, stirring rate of 150 rpm and substrate concentration of 500 g/L contributing to the total cell of  $3.85 \times 10^8$ ,  $1.13 \times 10^9$ , and  $4.00 \times 10^8$  for lag, exponential, and decrease phase, respectively. Further analysis carried out based on stirring rate of 150 rpm, and substrate concentration of 500 g/L resulted in the largest average concentration of lactate acid of 1.620% v/v with glucose consumption percentage of 51.76%.

Keywords: anaerobic, fermentation, lactate acid, *Lactobacillus plantarum*, pineapple peel

### 1. Pendahuluan

Salah satu material kimia yang banyak diteliti pada saat ini adalah senyawa asam laktat. Zat tersebut merupakan salah satu solusi masalah pencemaran alam karena karakteristiknya sangat ramah lingkungan

sehingga dikenal sebagai the green solvent compound and biodegradable plastic raw material (Rahman dkk., 2011; Jawad dkk., 2013; Narayanan dkk., 2004). Senyawa kimia ini juga dibutuhkan dalam industri lainnya, mulai dari industri makanan sampai dengan industri kosmetik.

Proses produksi asam laktat umumnya menggunakan teknologi fermentasi dari berbagai bahan yang memiliki kandungan glukosa dan karbohidrat yang tinggi yang selanjutnya oleh mikroba laktat difermentasi menjadi asam laktat (Rahman dkk., 2013; Lim dkk., 2008). Bahan yang sering digunakan adalah glukosa, molasses, jagung, kentang, dan singkong (Bomrungnok dkk., 2012). Namun saat ini mulai ditemukan terobosan baru mengenai bahan baku pembuatan asam laktat, yaitu dengan memanfaatkan limbah dari berbagai pengolahan produk agroindustri (Hajar dkk., 2012; Jawad dkk., 2013). Seperti halnya penelitian ini yang akan mencoba mengolah kulit nanas yang merupakan limbah yang dihasilkan dari industri pengolahan nanas menjadi asam laktat dengan menggunakan bakteri *Lactobacillus plantarum*. Kulit nanas selain mempunyai kandungan air juga mempunyai kandungan karbohidrat yang cukup tinggi (Ketnawa, 2012). Besarnya kandungan air dan karbohidrat inilah yang merupakan faktor pertumbuhan mikroba laktat pada kulit nanas.

## 2. Metodologi

### 2.1. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: kulit buah nanas, media agar MRS broth, aquades, alkohol 70%, HCl 0,1 N, NaOH 0,1 N, indikator fenoltalein, amonium dihidrogen fosfat ((NH<sub>4</sub>)H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), dan isolate bakteri *Lactobacillus plantarum* yang diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Lampung.

### 2.2. Alat

Alat-alat yang digunakan yaitu fermentor atau erlenmeyer, autoclave, kertas saring, erlenmeyer 50, 100, 250 ml, pipet volume 1, 2, 3, 5, 10, 20, 50 ml, gelas piala, pipet tetes, alumunium foil, blender kering, gelas beaker 100, 600, 1000 ml, gelas ukur 10, 100, 1000 ml, tabung reaksi, spatula, stopwatch, penyaring, pH meter, neraca Ohaus, termometer, hermocymeter, kuvet, spektrofotometer, Shaker water bath, pengaduk vorteks, pembakar Bunsen, oose, corong, mikroskop, inkubator, dan hot plate.

### 2.3. Peremajaan *L. plantarum* dalam Media Cair MRS Broth

Media cair dibuat dari 5,78 g MRS broth ditambahkan dengan aquades sampai 105 ml. Campuran kemudian dipanaskan di hot

plate sambil diaduk dengan magnetic stirrer. Setelah MRS broth larut seluruhnya, larutan dimasukkan ke dalam 10 buah tabung reaksi sebanyak 10 - 15 ml, lalu ditutup dengan kapas sumbat dan alumunium foil. Media cair MRS broth tersebut kemudian disterilkan dalam autoclave pada temperatur 121°C selama 15 menit. Setelah sterilisasi, media didinginkan dan disimpan dalam inkubator. Peremajaan *L. plantarum* dilakukan dalam clean bench yang telah disterilisasi dengan alkohol. *Stock culture* pada media agar miring dan jarum oose dipersiapkan, kemudian stock culture yang berasal dari agar miring tersebut diambil sebanyak 2 oose untuk dimasukkan ke dalam masing-masing tabung, dan kemudian disimpan di dalam inkubator selama 24 jam sampai terbentuk endapan berwarna putih di dasar tabung. Setelah itu biakan disimpan di dalam lemari pendingin sambil mengamati pertumbuhannya.

### 2.4. Penyiapan Bahan Baku Kulit Nanas

Kulit nanas yang dipakai untuk penelitian ini adalah yang berasal dari buah nanas jenis "Queen" dengan warna kulit kemerahan jika sudah masak. Kulit nanas ini diambil dari pemasok nanas di daerah Panjang, Bandar Lampung. Kulit nanas yang diperoleh kemudian dipisahkan dari kotoran-kotoran yang menempel, kemudian dipotong kecil-kecil. Potongan-potongan kulit nanas tersebut kemudian dioven pada temperatur 70°C untuk mengurangi kadar air. Setiap hari selama kegiatan pengovenan berlangsung dilakukan penimbangan kulit nanas. Jika berat kulit nanas 2 hari berturut-turut sama atau mendekati sama, maka pengovenan dihentikan karena diasumsikan bahwa kandungan airnya sudah habis.

### 2.5. Pembuatan Starter

Kulit nanas kering ditimbang sebanyak 100, 200, 300, 400, 500 dan 600 g untuk volume kerja 1000 ml, diblender dan ditambah aquades pada masing-masing variasi berat kulit nanas, kemudian dimasak dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 4% sebanyak 125 ml selama 2 jam pada temperatur 80°C untuk memecah karbohidrat menjadi glukosa. Setelah dimasak sari kulit nanas disaring dan dimasukkan ke dalam botol penampung yang bersih dan steril untuk masing-masing konsentrasi (100 g/1000 ml, 300 g/1000 ml, dan 500 g/1000 ml) sebanyak 250 ml. Kemudian didinginkan dalam keadaan tertutup. Keasaman medium diatur pada pH 5 dengan penambahan HCl atau NaOH. Ditambahkan pula 12,5 g/L amonium di-

hidrogen fosfat ((NH<sub>4</sub>)H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) sebagai nutrisi. Selanjutnya botol-botol yang berisi medium tersebut ditutup dengan kapas sumbat serta dilapisi dengan aluminium foil, lalu disterilisasi pada temperatur 121°C selama 15 menit, 1 atm, lalu didinginkan dan disimpan dalam lemari pendingin.

▪ **Untuk konsentrasi 100 g/1000 ml**

Menginokulasi biakan kultur murni sebanyak 10% dari 250 ml medium starter. Kemudian menutup botol penampung tempat menginokulasi biakan kultur murni dengan menggunakan kapas sumbat dan terakhir ditutup dengan aluminium foil. Menyimpan botol di dalam shaker waterbath dengan suhu 28°C, dan variasi agitasi 50, 150, dan 250 rpm, selama 24 jam.

▪ **Untuk konsentrasi 200 g/1000 ml**

Menginokulasi biakan kultur murni sebanyak 10% dari 250 ml medium starter. Kemudian menutup botol penampung tempat menginokulasi biakan kultur murni dengan menggunakan kapas sumbat dan terakhir ditutup dengan aluminium foil. Menyimpan botol di dalam shaker waterbath dengan suhu 28°C, dan variasi agitasi 50, 150, dan 250 rpm, selama 24 jam.

▪ **Untuk konsentrasi 300 g/1000 ml**

Menginokulasi biakan kultur murni yang berasal dari medium starter dengan konsentrasi 100 g/1000 ml. Jumlah biakan yang diinokulasi sebanyak 10% dari 250 ml (untuk konsentrasi 300 g/1000 ml) medium starter. Langkah selanjutnya sama dengan perlakuan pada medium starter konsentrasi 100 g/1000 ml.

▪ **Untuk konsentrasi 400 g/1000 ml**

Menginokulasi biakan kultur murni yang berasal dari medium starter dengan konsentrasi 200 g/1000 ml. Jumlah biakan yang diinokulasi sebanyak 10% dari 250 ml (untuk konsentrasi 400 g/1000 ml) medium starter. Langkah selanjutnya sama dengan perlakuan pada medium starter konsentrasi 200 g/1000 ml.

▪ **Untuk konsentrasi 500 g/1000 ml**

Menginokulasi biakan kultur murni yang berasal dari medium starter dengan konsentrasi 300 g/1000 ml. Jumlah biakan yang diinokulasi sebanyak 10% dari 250 ml (untuk konsentrasi 500 g/1000 ml) medium starter. Langkah selanjutnya sama dengan

perlakuan pada medium starter konsentrasi 100 g/1000 ml dan 300 g/1000 ml.

▪ **Untuk konsentrasi 600 g/1000 ml.**

Menginokulasi biakan kultur murni yang berasal dari medium starter dengan konsentrasi 400 g/1000 ml. Jumlah biakan yang diinokulasi sebanyak 10% dari 250 ml (untuk konsentrasi 600 g/1000 ml) medium starter. Langkah selanjutnya sama dengan perlakuan pada medium starter konsentrasi 200 g/1000 ml dan 400 g/1000 ml. Setiap 4 jam sekali selama 24 jam jumlah mikroorganisme dihitung apabila sudah mencapai fase logaritma maka mikroorganisme yang berada dalam media cair tersebut siap digunakan untuk proses fermentasi.

## 2.6. Fermentasi (Kajian Lanjutan)

Menimbang kulit nanas kering sebanyak 500 gram untuk volume kerja 1000 ml, diblender dan ditambah aquades pada masing-masing variasi berat kulit nanas, kemudian dimasak dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 4% sebanyak 125 ml selama 2 jam pada temperatur 80°C untuk memecah karbohidrat menjadi glukosa. Setelah dimasak sari kulit nanas disaring dan dimasukkan ke dalam botol penampung yang bersih dan steril sebanyak 250 ml, kemudian didinginkan dalam keadaan tertutup. Keasaman medium diatur pada pH 5 dengan penambahan HCl jika terlalu basa dan penambahan NaOH jika terlalu asam.

Ditambahkan pula 12,5 g/L amonium dihidrogen fosfat ((NH<sub>4</sub>)H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) sebagai nutrisi. Selanjutnya botol-botol yang berisi medium tersebut ditutup dengan kapas sumbat serta dilapisi dengan aluminium foil, kemudian disterilisasi pada temperatur 121°C selama 15 menit dan tekanan 1 atm, selanjutnya didinginkan dan disimpan dalam lemari pendingin. Dimasukkan campuran yang telah steril ke dalam shaker water bath dengan variasi pengadukan 50, 150, dan 250 rpm. Diinokulasi biakan kultur murni yang berasal dari medium starter sesuai dengan kombinasi perlakuan yang telah ditentukan (variasi konsentrasi substrat dan pengadukan). Jumlah biakan yang diinokulasi sebanyak 10% dari 250 ml medium fermentasi. Kemudian difermentasikan dalam jangka waktu tertentu (dengan batasan asam laktat sudah tidak terbentuk maka fermentasi dihentikan) pada variasi suhu 22, 25, 28°C.

## 2.7. Analisis Mikroorganisme

Perhitungan jumlah mikroba dilakukan berdasarkan perhitungan jumlah mikroba

secara langsung. Caranya dengan menghitung mikroba secara keseluruhan dari sampel yang diambil yaitu dengan menggunakan ruang hitung (Counting chamber) seperti hemocytometer yaitu dengan menempatkan 1 tetes sampel pada alat tersebut, kemudian diamati menggunakan mikroskop. Dengan menentukan jumlah sel rata-rata tiap petaknya (ruangan) yang telah diketahui volumenya dari alat tersebut dapat ditentukan jumlah sel mikroba tiap milliliter-nya.

## 2.8. Analisis pada Kajian Lanjutan Konsentrasi Glukosa

Analisis gula reduksi pada kulit nanas dengan menggunakan alat spektrofotometer dengan metode Nelson-Somogy.

### ▪ Penyiapan kurva standar

Dibuat larutan glukosa standar (10 mg glukose anhidrat/100 ml), kemudian dilakukan 6 pengenceran sehingga diperoleh larutan glukosa dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 mg/100 ml. Selanjutnya disiapkan 7 tabung reaksi yang bersih, masing-masing diisi dengan 1 ml larutan glukosa standar tersebut di atas dan satu dan satu tabung diisi 1 ml air suling sebagai blanko. Ke dalam masing-masing tabung ditambahkan 1 ml reagensia Nelson dan dipanaskan pada penangas air mendidih selama 20 menit. Semua tabung segera didinginkan secara bersama-sama di dalam gelas piala yang berisi air dingin sehingga suhu tabung mencapai 25°C, kemudian ditambahkan 1 ml reagensia arsenomolybdat, lalu dikocok sampai semua endapan  $\text{Cu}_2\text{O}$  larut kembali.

Setelah semua endapan  $\text{Cu}_2\text{O}$  larut sempurna, ditambahkan 7 ml air suling, lalu dikocok sampai homogen. Absorbansi masing-masing larutan dibaca pada panjang gelombang 540 nm dengan spektrofotometer. Hasilnya dibuat kurva standar yang menunjukkan hubungan antara konsentrasi glukosa dan absorbansi.

### ▪ Menentukan gula reduksi pada larutan contoh

Menyiapkan larutan contoh yang jernih dengan kadar gula reduksi sekitar 2 – 8 mg/100 ml. Jika larutan contoh keruh atau berwarna maka dijernihkan terlebih dahulu dengan menggunakan pb-asetat atau bubuk aluminium hidroksida. Larutan contoh yang jernih tersebut dimasukan ke dalam tabung reaksi yang bersih sebanyak 1 ml. Kemudian ditambahkan 1 ml reagensia Nelson.

Selanjutnya diperlakukan seperti pada penyiapan kurva standar di atas. Jumlah gula reduksi dapat ditentukan berdasarkan absorbansi larutan contoh dan kurva standar larutan glukosa.

## 2.9. Konsentrasi Asam Laktat Tertitrasi

Pengukuran total asam laktat tertitrasi dilakukan dengan metode Fardiaz (1987). Sampel sebanyak 25 ml diencerkan dengan air destilat sampai dengan 250 ml. Campuran tersebut kemudian dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N dengan indikator fenoltalein. Titrasi dihentikan setelah terbentuk warna merah muda yang tetap. Total asam laktat dihitung sebagai % asam laktat dengan rumus seperti pada persamaan 1.

## 3. Hasil dan Pembahasan

### 3.1. Konsentrasi Sel Mikroorganisme

Pertumbuhan sel *Lactobacillus plantarum* dengan variasi agitasi dan konsentrasi substrat dapat dilihat pada Tabel 1 sampai Tabel 5. Kemampuan mikroorganisme untuk tumbuh dan mensintesis produk pada suatu lingkungan ditentukan oleh susunan genetik mikroorganisme itu sendiri, serta pemilihan strain dan penentuan parameter operasi seperti temperatur, agitasi, pH dan konsentrasi substrat yang digunakan. *Lactobacillus plantarum* merupakan bakteri yang mampu memfermentasi bahan yang mengandung gula, karena mikroorganisme ini menghasilkan enzim  $\alpha$ -amilase yang dapat mengubah glukosa dalam substrat menjadi asam laktat.

Secara umum enzim bekerja optimal pada selang temperatur tertentu. Oleh karena alasan tersebut maka ditentukan temperatur yang tepat agar enzim tersebut dapat beraktivitas dengan baik, dimana temperatur yang digunakan pada penelitian ini adalah 28°C.

Hal ini sesuai dengan temperatur dimana kebanyakan bakteri laktat mempunyai temperatur fermentasi optimum 28 - 30°C, misalnya bakteri dari genus *Bacillus*. Sedangkan golongan *Lactobacillus* mampu bekerja paling baik pada temperatur di atas 22°C, termasuk *Lactobacillus plantarum*. Pada penelitian ini pH lingkungan pertumbuhan tidak dijaga tetap tetapi pH awal ditentukan yaitu 5, karena pH 5 merupakan pH yang kondusif untuk pertumbuhan bakteri (Saito dkk., 2012). Sedangkan untuk agitasi dan konsentrasi substrat belum diketahui secara pasti berapa nilai yang

tepat untuk pertumbuhan bakteri dan proses fermentasi, tetapi seperti yang telah dijelaskan pada bagian sebelumnya bahwa ada batasan-batasan yang harus diperhatikan, untuk pemilihan konsentrasi substrat yaitu konsentrasi substrat tidak

boleh terlalu encer ataupun tidak terlalu pekat karena bila konsentrasi substrat semakin meningkat, maka akan terjadi dehidrasi sel dalam larutan yang demikian pekatnya sehingga akan menghambat proses (Judoamidjojo, 1990).

$$\% \text{ asam laktat} = \frac{\text{ml NaOH} \times N \text{ NaOH} \times \text{BM NaOH} \times (1/1000) \times \text{FP}}{\text{ml sampel}} \times 100 \quad (1)$$

**Tabel 1.** Konsentrasi sel pada masing-masing variasi konsentrasi substrat, agitasi 50 rpm, temperatur 28°C serta pH awal 5

Waktu (jam)	Konsentrasi Sel/ml Media pada Kecepatan Pengadukan (rpm) / Konsentrasi Substrat (g/L)					
	50/100	50/200	50/300	50/400	50/500	50/600
0	3,75.10 <sup>8</sup>	4,35.10 <sup>8</sup>	3,95.10 <sup>8</sup>	6,05.10 <sup>8</sup>	3,95.10 <sup>8</sup>	5,00.10 <sup>8</sup>
4	5,50.10 <sup>8</sup>	5,25.10 <sup>8</sup>	6,35.10 <sup>8</sup>	6,75.10 <sup>8</sup>	6,80.10 <sup>8</sup>	6,25.10 <sup>8</sup>
8	7,40.10 <sup>8</sup>	6,00.10 <sup>8</sup>	8,00.10 <sup>8</sup>	9,05.10 <sup>8</sup>	8,70.10 <sup>8</sup>	8,20.10 <sup>8</sup>
12	9,95.10 <sup>8</sup>	9,30.10 <sup>8</sup>	1,04.10 <sup>9</sup>	1,07.10 <sup>9</sup>	1,10.10 <sup>9</sup>	9,75.10 <sup>8</sup>
16	8,90.10 <sup>8</sup>	7,65.10 <sup>8</sup>	9,15.10 <sup>8</sup>	9,50.10 <sup>8</sup>	9,40.10 <sup>8</sup>	8,60.10 <sup>8</sup>
20	5,00.10 <sup>8</sup>	5,75.10 <sup>8</sup>	5,65.10 <sup>8</sup>	7,50.10 <sup>8</sup>	5,45.10 <sup>8</sup>	6,70.10 <sup>8</sup>
24	3,25.10 <sup>8</sup>	4,50.10 <sup>8</sup>	4,00.10 <sup>8</sup>	5,65.10 <sup>8</sup>	3,75.10 <sup>8</sup>	4,75.10 <sup>8</sup>

**Tabel 2.** Konsentrasi sel pada masing-masing variasi konsentrasi substrat, agitasi 150 rpm, temperatur 28°C serta pH awal 5

Waktu (jam)	Konsentrasi Sel/ml Media pada Kecepatan Pengadukan (rpm) / Konsentrasi Substrat (g/L)					
	150/100	150/200	150/300	150/400	150/500	150/600
0	4,50.10 <sup>8</sup>	4,75.10 <sup>8</sup>	3,75.10 <sup>8</sup>	6,50.10 <sup>8</sup>	3,85.10 <sup>8</sup>	5,40.10 <sup>8</sup>
4	6,15.10 <sup>8</sup>	6,00.10 <sup>8</sup>	6,75.10 <sup>8</sup>	7,70.10 <sup>8</sup>	7,60.10 <sup>8</sup>	7,05.10 <sup>8</sup>
8	8,00.10 <sup>8</sup>	7,40.10 <sup>8</sup>	8,50.10 <sup>8</sup>	9,90.10 <sup>8</sup>	1,00.10 <sup>9</sup>	8,55.10 <sup>8</sup>
12	1,08.10 <sup>9</sup>	1,07.10 <sup>9</sup>	1,10.10 <sup>9</sup>	1,12.10 <sup>9</sup>	1,13.10 <sup>9</sup>	1,90.10 <sup>9</sup>
16	9,10.10 <sup>8</sup>	9,20.10 <sup>8</sup>	9,25.10 <sup>8</sup>	1,00.10 <sup>9</sup>	9,50.10 <sup>8</sup>	1,04.10 <sup>9</sup>
20	5,15.10 <sup>8</sup>	6,15.10 <sup>8</sup>	4,90.10 <sup>8</sup>	8,05.10 <sup>8</sup>	6,05.10 <sup>8</sup>	7,15.10 <sup>8</sup>
24	3,15.10 <sup>8</sup>	4,60.10 <sup>8</sup>	4,05.10 <sup>8</sup>	5,80.10 <sup>8</sup>	4,00.10 <sup>8</sup>	4,20.10 <sup>8</sup>

**Tabel 3.** Konsentrasi sel pada masing-masing variasi konsentrasi substrat, agitasi 250 rpm, temperatur 28°C serta pH awal 5

Waktu (jam)	Konsentrasi Sel/ml Media pada Kecepatan Pengadukan (rpm) / Konsentrasi Substrat (g/L)					
	250/100	250/200	250/300	250/400	250/500	250/600
0	3,90.10 <sup>8</sup>	4,50.10 <sup>8</sup>	3,85.10 <sup>8</sup>	6,25.10 <sup>8</sup>	4,00.10 <sup>8</sup>	5,25.10 <sup>8</sup>
4	5,00.10 <sup>8</sup>	5,50.10 <sup>8</sup>	6,05.10 <sup>8</sup>	7,45.10 <sup>8</sup>	6,35.10 <sup>8</sup>	6,50.10 <sup>8</sup>
8	7,75.10 <sup>8</sup>	6,55.10 <sup>8</sup>	7,65.10 <sup>8</sup>	9,05.10 <sup>8</sup>	8,50.10 <sup>8</sup>	8,25.10 <sup>8</sup>
12	9,95.10 <sup>9</sup>	9,90.10 <sup>8</sup>	1,06.10 <sup>9</sup>	1,10.10 <sup>9</sup>	1,09.10 <sup>9</sup>	1,01.10 <sup>9</sup>
16	9,00.10 <sup>8</sup>	8,10.10 <sup>8</sup>	9,25.10 <sup>8</sup>	1,00.10 <sup>9</sup>	9,30.10 <sup>8</sup>	9,35.10 <sup>8</sup>
20	5,65.10 <sup>8</sup>	6,15.10 <sup>8</sup>	4,90.10 <sup>8</sup>	7,8.10 <sup>8</sup>	5,85.10 <sup>8</sup>	7,30.10 <sup>8</sup>
24	3,65.10 <sup>8</sup>	4,90.10 <sup>8</sup>	3,30.10 <sup>8</sup>	5,5.10 <sup>8</sup>	3,90.10 <sup>8</sup>	5,10.10 <sup>8</sup>

**Tabel 4.** Konsentrasi glukosa pada konsentrasi substrat 500 g/L, temperatur 28°C, pH 5

Substrat (gr/ml)	Agitasi (rpm)	Konsentrasi Glukosa (g/L) pada Jam ke-					K	% K
		0	24	48	72	96		
500/1000	50	70,13	65,65	50,13	46,70	43,71	26,42	37,67
	150	72,07	69,08	45,21	36,25	34,76	37,31	51,76
	250	71,63	67,15	48,71	40,23	38,74	32,89	38,74

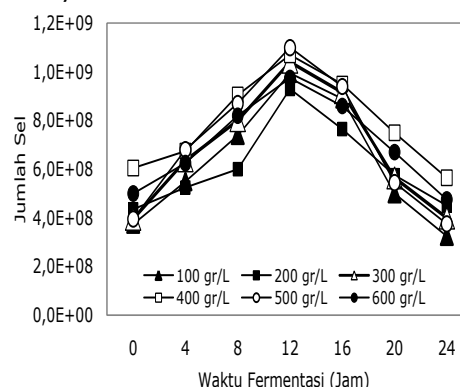
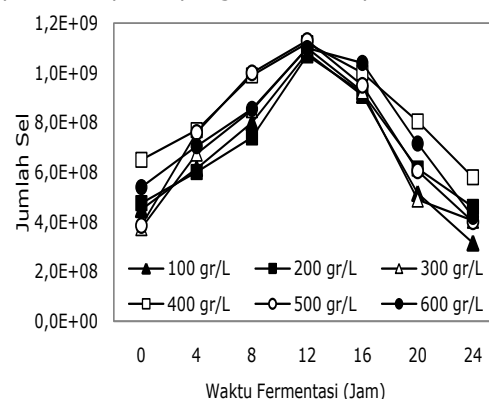
**Tabel 5.** Konsentrasi asam laktat tertitrisasi pada konsentrasi substrat 500 g/L, temperatur 28°C, pH 5

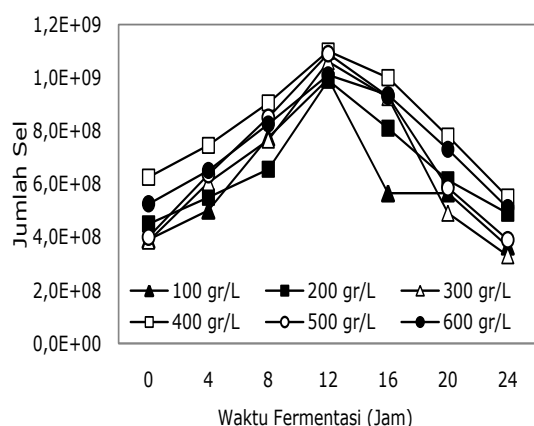
Substrat (g/ml)	Agitasi (rpm)	(%v/v) Total Asam Laktat pada Jam ke-				
		0	24	48	72	96
500/1000	50	0,90	1,17	1,35	1,35	1,26
	150	1,08	1,17	1,71	2,07	2,07
	250	1,26	1,35	1,53	1,89	1,80

Perlu diperhatikan, penentuan kecepatan pengadukan (agitasi) jangan sampai menimbulkan kondisi vorteks di fermentor, dan jangan terlalu rendah karena dapat mengakibatkan ketidakhomogenan campuran. Bila itu terjadi, akan mengakibatkan laju perpindahan massa substrat, nutrisi, dan gula reduksi rendah, sehingga dapat mengakibatkan matinya sel biomassa. Sehingga dari penelitian ini diharapkan dapat diketahui agitasi dan konsentrasi substrat yang terbaik untuk pertumbuhan bakteri dan proses fermentasi asam laktat dari kulit nanas.

Gambar 1 sampai 3 menunjukkan pertumbuhan bakteri *Lactobacillus plantarum* selama proses inkubasi (fermentasi). Secara umum dari Gambar 1 sampai 3 diketahui bahwa pada beberapa variasi konsentrasi substrat 100g/1000ml, 200g/1000ml, sampai dengan 600g/1000ml, dan agitasi 50 rpm, 150 rpm, dan 250 rpm pertumbuhan sel bakteri mencapai fase eksponensial atau logaritmik pada jam ke-12. Pada fase ini sel sudah mampu beradaptasi dengan lingkungan baru, hal ini ditunjukkan dari jumlah sel yang mulai meningkat drastis, selain melakukan proses metabolisme sel juga membentuk produk berupa asam laktat. Laju pertumbuhan atau reproduksi selular mencapai titik maksimal. Sehingga pada fase ini inokulum telah siap untuk dipindahkan ke dalam media fermentasi. Dari gambar secara garis besar juga terlihat bahwa pada keseluruhan variasi baik agitasi maupun konsentrasi substrat, agitasi 150 rpm dan konsentrasi substrat 500 g/L merupakan kondisi operasi yang

paling baik untuk pertumbuhan *Lactobacillus plantarum*. Karena pertumbuhan selnya berlangsung dengan sangat cepat bila dibandingkan dengan pertumbuhan pada variasi agitasi dan konsentrasi substrat lainnya.

**Gambar 1.** Jumlah sel *Lactobacillus plantarum* pada kecepatan pengadukan 50 rpm**Gambar 2.** Jumlah sel *Lactobacillus plantarum* pada kecepatan pengadukan 150 rpm.



**Gambar 3.** Jumlah sel *Lactobacillus plantarum* pada kecepatan pengadukan 250 rpm

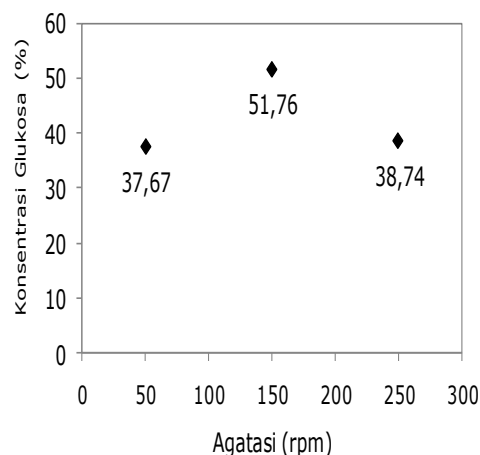
Pada fase awal atau fase lag jumlah sel *lactobacillus plantarum* masih relatif sama dengan yang lain yaitu  $3,85 \times 10^8$ , sedangkan pada fase logaritmiknya mencapai  $1,13 \times 10^9$  sel yang merupakan jumlah terbesar dari keseluruhan variasi.

### 3.2. Pengaruh Kecepatan Pengadukan terhadap Konsumsi Glukosa dan Produksi Asam Laktat

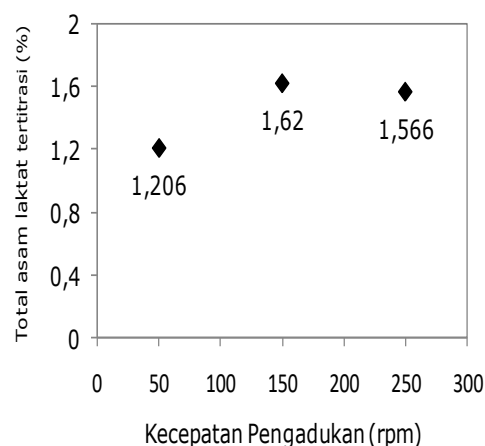
Kajian lanjutan pengaruh kecepatan pengadukan terhadap konsumsi glukosa dan produksi asam laktat dilakukan untuk mengaplikasikan kondisi terbaik yang telah diperoleh dari penelitian awal (mencari kondisi terbaik pertumbuhan bakteri pada starter) pada proses fermentasi. Gambar 4 menunjukkan bahwa pada agitasi 50 rpm persentase konsumsi glukosa cukup rendah yaitu 37,67%, tidak jauh berbeda dengan konsumsi glukosa pada kecepatan pengadukan 250 rpm yaitu 38,74%, sedangkan pada kecepatan pengadukan 150 rpm diperoleh persentase konsumsi glukosa sebesar 51,76%.

Persentase konsumsi glukosa tertinggi dicapai pada kecepatan pengadukan 150 rpm, sehingga secara garis besar kecepatan pengadukan 150 rpm dianggap sebagai kecepatan pengadukan yang paling ideal dibandingkan dengan variasi kecepatan pengadukan yang lain. Kecepatan pengadukan 150 rpm ini juga merupakan kecepatan pengadukan yang baik untuk pertumbuhan bakteri pada proses pembuatan starter. Hal ini disebabkan karena pada kecepatan pengadukan 50 rpm kemungkinan belum dapat memberikan kondisi yang homogen pada media selama fermentasi berlangsung, akibatnya laju

perpindahan massa substrat, dan nutrisi adalah rendah, sehingga dapat mengakibatkan matinya sel biomassa.



**Gambar 4.** Pengaruh agitasi terhadap konsumsi glukosa pada konsentrasi substrat 500 g/L



**Gambar 5.** Pengaruh agitasi terhadap produksi asam laktat pada konsentrasi substrat 500 g/L

Pada kecepatan pengadukan 250 rpm menyebabkan profil aliran pada media menjadi sangat turbulen sehingga dapat mengganggu aktivitas bakteri ketika mengkonsumsi glukosa sehingga dapat menurunkan kemampuan *lactobacillus plantarum* untuk mengkonsumsi glukosa, dan akibatnya konsentrasi glukosa pada akhir fermentasi masih cukup tinggi. Total asam laktat yang dihasilkan sebanding dengan peningkatan jumlah glukosa yang dikonsumsi oleh bakteri *Lactobacillus plantarum* (Gambar 5). Rata-rata % total asam laktat tertitiasi yang paling tinggi juga dihasilkan pada proses fermentasi dengan kecepatan pengadukan 150 rpm, yaitu sebesar 1,620%, sedangkan kecepatan pengadukan 50 rpm dan 250 rpm hanya menghasilkan

% total asam laktat tertitiasi sebesar 1,206 dan 1,566% v/v.

#### 4. Kesimpulan

Kecepatan pengadukan 150 rpm dan konsentrasi substrat 500 g/L adalah kondisi operasi terbaik untuk pertumbuhan bakteri *Lactobacillus plantarum* pada saat pembuatan starter. Pada kajian lanjutan ternyata konsentrasi asam laktat tertinggi juga terbentuk pada kecepatan pengadukan 150 rpm, dengan konsentrasi substrat 500 g/L, temperatur fermentasi 28°C, dan pH awal 5.

#### Daftar Pustaka

- Bomrungnok, W., Sonomoto, K., Pinitglang, S., Wongwicharn (2012) Single step lactic acid production from cassava starch by *Lactobacillus plantarum* SW14 in conventional continuous and continuous with high cell density, *APCBEE Precedia*, 2, 97 - 103.
- Fardiaz, S. (1987) *Fermentation Physiology*, Inter-University IPB, Bogor.
- Hajar, N., Zainal, S., Nadzirah, K. Z., Siti Roha, A. M., Atikah, O., Elida, T. Z. M. (2012) Physicochemical properties analysis of three indexes pineapple (*Ananas comosus*) peel extract variety N36, *APCBEE Precedia*, 4, 115 - 121.
- Jawad, A. H., Alkarkhi, A. F. M. Jason, O. C., Easa, A. M., Norulain, N. A. N. (2013) Production of the lactic acid from mango peel waste - Factorial experiment, *Journal of King Saud University - Science*, 25 (1), 39 - 45.
- Judoamidjojo, M. (1990) *Teknologi Fermentasi*, Jakarta.
- Ketnawa, S., Chaiwut, P., Rawdkuen, S. (2012) Pineapple waste: A potential source for bromelain extraction, *Food and Bioproducts Processing*, 90, 385 - 391.
- Lim, L. T., Auras, R., Rubino, M. (2008) *Processing technologies for poly(lactic acid)*, *Progress in Polymer Science*, 33 (8), 820 - 852.
- Narayanan, N., Roychoudhury, P. K., Srivastava, A. (2004), L (+) Lactic acid fermentation and its product polymerization, *Electronic Journal of Biotechnology*, 2, 167 - 179.
- Rahman, M. A. A., Tashiro, Y., Sonomoto, K. (2011) Lactic acid production from lignocellulose-derived sugars using lactic acid bacteria, *Journal of Biotechnology*, 156 (4), 286 - 301.
- Rahman, M. A. A., Tashiro, Y., Sonomoto, K. (2013), Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes, *Biotechnology Advances*, 31, 877 - 902.
- Saito, K., Hasa, Y., Abe, H. (2012) Production of lactic acid from xylose and wheat straw by *Rhizopus oryzae*, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 144, 166 - 169.